

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平5-186366

(43) 公開日 平成5年(1993)7月27日

BEST AVAILABLE COPY

(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 37/02	ACD AED	8314-4C		

審査請求 未請求 請求項の数1(全 9 頁)

(21) 出願番号 特願平4-2424

(22) 出願日 平成4年(1992)1月9日

(71) 出願人 000001904

サントリー株式会社

大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号

(72) 発明者 上田 政和

東京都新宿区南山伏町2-10 東建ニュー

ハイツ市ヶ谷504

(74) 代理人 弁理士 湯浅 恭三 (外5名)

(54) 【発明の名称】 ARDS治療用医薬組成物

(57) 【要約】

【目的】 従来、有力な治療薬のなかった成人型呼吸窮迫症候群 (ARDS) の治療用医薬組成物を提供することにある。

【構成】 ヒト心房由来ナトリウム利尿ペプチドを有効成分とするARDSの治療用医薬組成物。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ヒト心房由来ナトリウム利尿ペプチドを有効成分とするARDS治療用医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明はヒト心房由来ナトリウム利尿ペプチド（以下、ANPと略す）を有効成分とする成人型呼吸窮迫症候群（以下、ARDSと略す）治療用医薬組成物に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 ARDSはショック、外傷、骨折、敗血症、肺、薬物中毒等の様々な病態を契機として、気管のうちに起こる重篤な呼吸不全を呈するものの総称である。肺血管内皮や肺胞上皮の透過性亢進に基づく肺間質の浮腫性病変であり、肺浮腫、無気肺などを引き起こし、さらに遷延すると不可逆的な間質の線維化や肺血管床の減少を引き起こす。第1期には呼吸困難が、第2期には低酸素血症、胸写上浸潤影が出現する。第3期には肺胞病変が進行し、肺コンプライアンスは著しく低下し機械的人工呼吸が不可欠となる。この時までの死亡率は約50%である。第4期になると肺の線維化、感染が著明になり死亡率は約80%に達する。

【0003】 ARDSに対する従来の治療法としては呼吸管理がある。これは肺コンプライアンスと機能的残気量の低下を改善するため、人工呼吸（呼気終末陽圧呼吸。以下、PEEPと略す）を行う。PEEPは閉塞した末梢気道を開通させ、虚脱した肺胞を再膨張させることによりガス交換を改善する。しかし、肺胞上皮の損傷や間質浮腫の増強をもたらすことが問題となっている。

【0004】 また、薬物療法としては現在ARDSに有効な薬剤はなく、血管透過性亢進や蛋白分解酵素放出を抑制するとして酢酸メチルプレドニゾロン（デボ・メドロール）等のステロイド剤のパルス投与が行われてきたが、ARDSに対する効果は否定されている。

【0005】 その他、ARDSの発生には好中球、マクロファージ、血小板から放出される多くのメディエーターが関与することから、SOD、Vitamin E1等の過酸化物のスカベンジャー、OKY-046等のTXA2合成阻害薬、イブプロフェン等のシクロキシゲナーゼ阻害薬、ウリナスタチン等の蛋白分解酵素阻害薬等の拮抗薬や合成阻害薬の検討がなされている。しかし、ARDSの発生機序が単一のメディエーターでは説明できず、何れも十分な効果は認められていない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】 従って、本発明の目的はARDSに有効な医薬組成物を提供することであり、更に詳しくは、ヒト心房由来ナトリウム利尿ペプチドを有効成分とするARDS治療用医薬組成物を提供することである。

【0007】

【課題を解決するための手段】 ARDS患者の血漿中ANP濃度は健常人の血漿中ANP濃度の約8倍高い。また、PEEP法による人工呼吸時には肺間質の浮腫が認められるが、この時血漿中ANP濃度が減少することから、ANPはARDS患者において肺浮腫を軽減しガス交換を改善させることが期待される。

【0008】 本発明におけるANPとしては主に28個のアミノ酸残基からなる α -hANP（特公昭63-19520）を用いることができるが、当該ペプチドのリング構造及びC末端部を有するペプチド、即ち、 α -hANPの7-28位のアミノ酸残基を有するペプチドであれば何れも用いることができる。また、当該ペプチドは天然から純粋に単離・精製されたもの、化学合成法又は遺伝子組換え法によって製造されたものの何れをも用いることができる。

【0009】 本発明のペプチドはナトリウム、カリウム、リチウム、カルシウム等の金属塩、有機塩基による塩の形態であってもよい。また硫酸、塩酸、リン酸等の鉱酸、あるいは酢酸、マレイン酸等の有機酸との塩の形態であってもよい。もちろん本発明に関するペプチドを医薬に使用するときには、遊離形または医薬的に許容し得る塩であってもよい。

【0010】 本発明のペプチドもしくはその薬理学的に許容し得る塩は、自体公知の薬理的に許容しうる担体、賦形剤、希釈剤などと混合してペプチド医薬に一般に使用されている投与方法、すなわち非経口投与方法、例えば静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与等によって投与するのが好ましい。経口投与した場合、本発明の医薬組成物は消化管内で分解を受けるためこの投与方法は一般的には効果的でないが、消化管内で分解を受けにくい製剤、例えば活性成分である本ペプチドをリボソーム中に抱容したマイクロカプセル剤として経口投与することも可能である。また、直腸、鼻内、舌下などの消化管以外の粘膜から吸収せしめる投与方法も可能である。この場合は坐剤、点鼻スプレー、舌下錠といった形態で投与することができる。

【0011】 本発明の医薬組成物の投与量は、疾患の種類、患者の年齢、体重、症状の程度および投与経路などによっても異なるが、一般的に0.1 μ g/kg~100mg/kgの範囲で投与することができ、0.5 μ g/kg~5mg/kgの範囲で投与するのが好ましく、1 μ g/kg~1mg/kgが更に好ましい。

【0012】 1. プタを用いたアッセイモデルによる測定方法

ニューヨークシャー種の雄性のプタ（体重16~24kg）を実験に用いた。動物は試験実施44時間、絶食、絶水とした。ペントバルビタールNa（2.0mg/kg）およびパンクロニウムBr（0.1mg/kg）の静脈内投与で導入麻酔し、その後ペントバルビタールNa（0.5mg/kg/hr）およびパンクロニウムB

r (0.1mg/kg/hr) の持続静脈内投与で麻酔を維持した。動物は腹臥位に固定し人工呼吸(17回/分、1回の換気量10~15ml/kg)し、PaO₂を35~45torrに保った。試験開始時に生理食塩水を5ml/kg静脈内投与し、その後30分間4ml/kg/hrの速度で持続静脈内投与した。

【0013】大腿動脈には血圧の測定、血中ANP濃度および血液ガス測定のためにテフロン・カテーテルを挿入した。また、肺動脈カテーテルを右上部静脈に挿入し肺動脈圧の変化を記録した。肺動脈圧(PAP)と右房圧(RAP)はサーミスターチップ付きの圧トランスデューサーで測定した。肺動脈楔入圧(PCWP)をバルーンカテーテルで測定した。心拍出量(CO)は熱希釈法を用いて3回測定した平均値から算出した。体温は肺動脈内に挿入したサーミスターで測定し、熱ジャケットを用いて37~38°Cに保った。心電図は四肢から誘導し、心電図波形と心拍数を測定した。

【0014】膀胱にカニユーレを挿入し尿を採集した。尿量は30分間の蓄尿量として測定し、採血および心行動態の測定は30分間隔で行った。血中α-hANP濃度の測定のための採血はEDTA(0.1mg/ml)

*1) およびaprotinin(500KIU/ml)入りの冷却させたガラス管を用いた。血液は4°Cの条件下で直ちに遠心分離し、血漿を-70°Cで冷凍保存した。血漿は2週間以内にα-hANP濃度の測定のために使用した。血漿中α-hANP濃度はウサギα-hANP抗体を用いたRIA法で測定した。

【0015】2. 測定方法のプロトコール

血圧、血液ガス、尿排泄量が安定するのを待って(60分間)試験を開始した。上記パラメータが安定した後の30分間を無処理の値(投与前の値)とした。気管内に挿入させたポリエチレン・カテーテルを用い両側の肺に0.1N HCl(2.0ml/kg)を30秒間で投与し、肺に障害を起こした。試験は以下の3群の動物を用いて行った(各群の動物数は5匹である)。

【0016】(1) 第1グループ: ANP投与群(肺障害を起こさせたブタにANPを投与した群) α-hANPは0.5% BSA、0.025mlに溶解し、0.1μg/kg/minの速度で右外頸静脈より60分間持続静注で投与した(HCl吸入60分後から120分まで)。

【0017】

HCl 吸入後の時間

-60min -30min 0min 60min 120min 180min

▲-----▲-----▲-----▲-----▲-----▲

安定期 無処理 ● HCl吸入 ←-----→

ANP投与

(2) 第2グループ: フロセミド投与群(肺障害を起こさせたブタに対照薬としてフロセミド(lasix:ヘキスト社製)を投与した群)フロセミドは0.05mg/kgをHCl吸入60分後に急速静脈内投与した。そ

※の後、0.5%BSAを0.025ml/kg/minの速度でHCl吸入60分後から120分まで持続静脈内投与した。

【0018】

-60min -30min 0min 60min 120min 180min

▲-----▲-----▲-----▲-----▲-----▲

安定期 無処理 ● HCl吸入 ●フロセミド投与

←-----→

BSA投与

(3) 第3グループ: 対照群(肺障害を起こさせたブタにBSAを投与した群) 0.5%BSAを0.025ml/kg/minの速度でHCl吸入60分後から120分まで持続静脈内投与した。

★0分まで持続静脈内投与した。

【0019】

-60min -30min 0min 60min 120min 180min

▲-----▲-----▲-----▲-----▲-----▲

安定期 無処理 ● HCl吸入 ←-----→

BSA投与

【0020】

【実施例】

実施例1 血漿中ANP濃度

ANP投与群の血漿中ANP濃度はHCl吸入60分後(ANP投与開始直前)の47.9±10.5pg/mlであったが、ANP持続静注60分後(HCl吸入120分後)には1130.6±123.19pg/mlに増加した。ANP投与終了60分後(HCl吸入180分後)には118.5±38.95pg/mlに急激に減少した。

0分後)には118.5±38.95pg/mlに急激に減少した。

【0021】一方、対照群、フロセミド(lasix)投与群では血漿中ANP濃度の変化は認められなかった。

【0022】結果を図1に示す。

【0023】実施例2 尿量

ANP投与群のHCl吸入30~60分後の尿排泄速度

5

は $0.016 \pm 0.003 \text{ ml/kg/min}$ であったが投与開始30分間(HC1吸入後60~90分)の尿排泄速度は $0.065 \pm 0.013 \text{ ml/kg/min}$ に増加し、ANP投与終了30~60分後(HC1吸入後150~180分)には $0.028 \pm 0.11 \text{ ml/kg/min}$ に復した。

【0024】フロセミド投与群のHC1吸入30~60分後の尿排泄速度は $0.018 \pm 0.004 \text{ ml/kg/min}$ であったが、フロセミド投与後30分間(HC1吸入後60~90分)の尿排泄速度は $0.110 \pm 0.052 \text{ ml/kg/min}$ に増加し、フロセミド投与後90~120分(HC1吸入後150~180分)の尿排泄速度は $0.027 \pm 0.009 \text{ ml/kg/min}$ に復した。ANP投与群およびフロセミド投与群の薬物投与後(HC1吸入後60~180分)の蓄尿量はそれぞれ $0.251 \pm 0.061 \text{ ml/kg/120min}$ 、 $0.205 \pm 0.068 \text{ ml/kg/120min}$ であり有意な差は認められなかった。

【0025】一方、対照群の尿排泄速度はHC1吸入前の $0.010 \pm 0.002 \text{ ml/kg/min}$ からHC1吸入120~150分後には $0.028 \pm 0.008 \text{ ml/kg/min}$ に増加したが、HC1吸入後6~180分の蓄尿量は $0.110 \pm 0.045 \text{ ml/kg/120min}$ であり、ANP投与群、フロセミド投与群に比し有意に($p < 0.05$)少なかった。

【0026】結果を図2に示す。以上のようにANP、フロセミドはほぼ等しい利尿作用を示した。

【0027】実施例3 動脈血酸素分圧(PaO_2)

対照群、ANP投与群およびフロセミド投与群のHC1吸入60分後の PaO_2 値はいずれもHC1吸入前値に比して減少したが、HC1吸入前および吸入60分後の3群の PaO_2 値には有意な差は認められなかった。

【0028】ANP投与群のHC1吸入前の PaO_2 値は $495.7 \pm 20.1 \text{ mmHg}$ であったが、HC1吸入60分後には $153.86 \pm 37.94 \text{ mmHg}$ に低下した。また、ANP投与開始120分後(HC1吸入180分後)の PaO_2 値は $404.5 \pm 48.2 \text{ mmHg}$ に復し、これは3群間で最も高い値であった($p < 0.05$ フロセミド群、 $p < 0.001$ 対照群)。

【0029】フロセミド投与群のHC1吸入前の PaO_2 値は $490.3 \pm 29.0 \text{ mmHg}$ であったが、HC1吸入60分後には $120.5 \pm 33.1 \text{ mmHg}$ に低下した。また、フロセミド投与120分後(HC1吸入180分後)の PaO_2 値は $287.9 \pm 78.2 \text{ mmHg}$ に増大した($p < 0.05$ 対照群)。

【0030】一方、対照群のHC1吸入前の PaO_2 値は $495.7 \pm 48.6 \text{ mmHg}$ であったが、HC1吸入60分後には $152.3 \pm 43.2 \text{ mmHg}$ に低下した。また、HC1吸入180分後の PaO_2 値は17

6

1. $1 \pm 32.6 \text{ mmHg}$ であり、HC1吸入60分後の PaO_2 値と有意な差は認められなかった。

【0031】結果を図3に示す。以上のようにHC1の吸入で誘発させた PaO_2 値の低下をANPおよびフロセミドは改善させたが、ANPの効果はフロセミドに比し強力であった。

【0032】実施例4 肺動脈圧(PAP)

ANPは血管拡張作用を有することが報告されており、PAPを低下させることが期待される。また、急性肺障害(ARDS)の治療にとってPAPを低下させることは重要である。

【0033】ANP投与群のHC1吸入前のPAPは $12.7 \pm 1.3 \text{ mmHg}$ であったが、HC1吸入60分後には $18.5 \pm 1.6 \text{ mmHg}$ ($p < 0.01$ HC1吸入前値、HC1吸入60分後の対照群とフロセミド群の間には有意差なし)に増大した。ANP投与開始60分後(HC1吸入120分後)のPAPは $15.6 \pm 2.0 \text{ mmHg}$ に低下したが($p < 0.001$ HC1吸入前値、 $p < 0.05$ HC1吸入120分後の対照群とフロセミド群)、ANP投与終了60分後(HC1吸入180分後)には $18.9 \pm 2.1 \text{ mmHg}$ に復した(HC1吸入180分後のフロセミド群および対照群との間には有意差なし)。

【0034】フロセミド投与群のHC1吸入前のPAPは $12.7 \pm 1.9 \text{ mmHg}$ であったが、フロセミド投与60分後(HC1吸入120分後)には $20.4 \pm 2.3 \text{ mmHg}$ に増大した。

【0035】対照群のHC1吸入前のPAPは $12.2 \pm 0.8 \text{ mmHg}$ であったが、HC1吸入120分後には $18.9 \pm 2.4 \text{ mmHg}$ に増大した。

【0036】結果を図4に示す。以上のようにANPはPAPを低下させたがフロセミドにPAP低下作用は認められなかった。

【0037】実施例5 血圧(BP)

ANP投与群のHC1吸入60分後のBPは $100.8 \pm 8.8 \text{ mmHg}$ であったが、ANP投与開始60分後(HC1吸入120分後)に $79.4 \pm 4.7 \text{ mmHg}$ に低下した。また、ANP投与終了60分後(HC1吸入180分後)にBPは $91.8 \pm 5.6 \text{ mmHg}$ に復した(フロセミド投与群と対照群との間に有意差なし)。

【0038】フロセミド投与群および対照群のBPに有意な変化は認められなかった。

【0039】結果を図5に示す。以上のようにANPはBPを低下させたがフロセミドにはBP低下作用は認められなかった。

【0040】

【発明の効果】ANPがARDSに有効であることが動物モデルを用いた本発明により証明された。従って、ANPが体液調整因子としてARDS患者においても作用

し、呼吸不全を改善することは十分に考えられる。また、ARDSはICUにおいて集中治療が必要な疾患であるが、現在ARDSに有効な薬剤がないために臨床における需要は非常に高く、本発明に係るARDS治療用医薬組成物は非常に有用である。

【図面の簡単な説明】

【図1】は実験動物としてブタを用いた肺障害モデルにおいて、ANP投与群、フロセミド(lasix)投与群、及び対照群の血漿中のANP濃度の経時的变化を示

すグラフである。

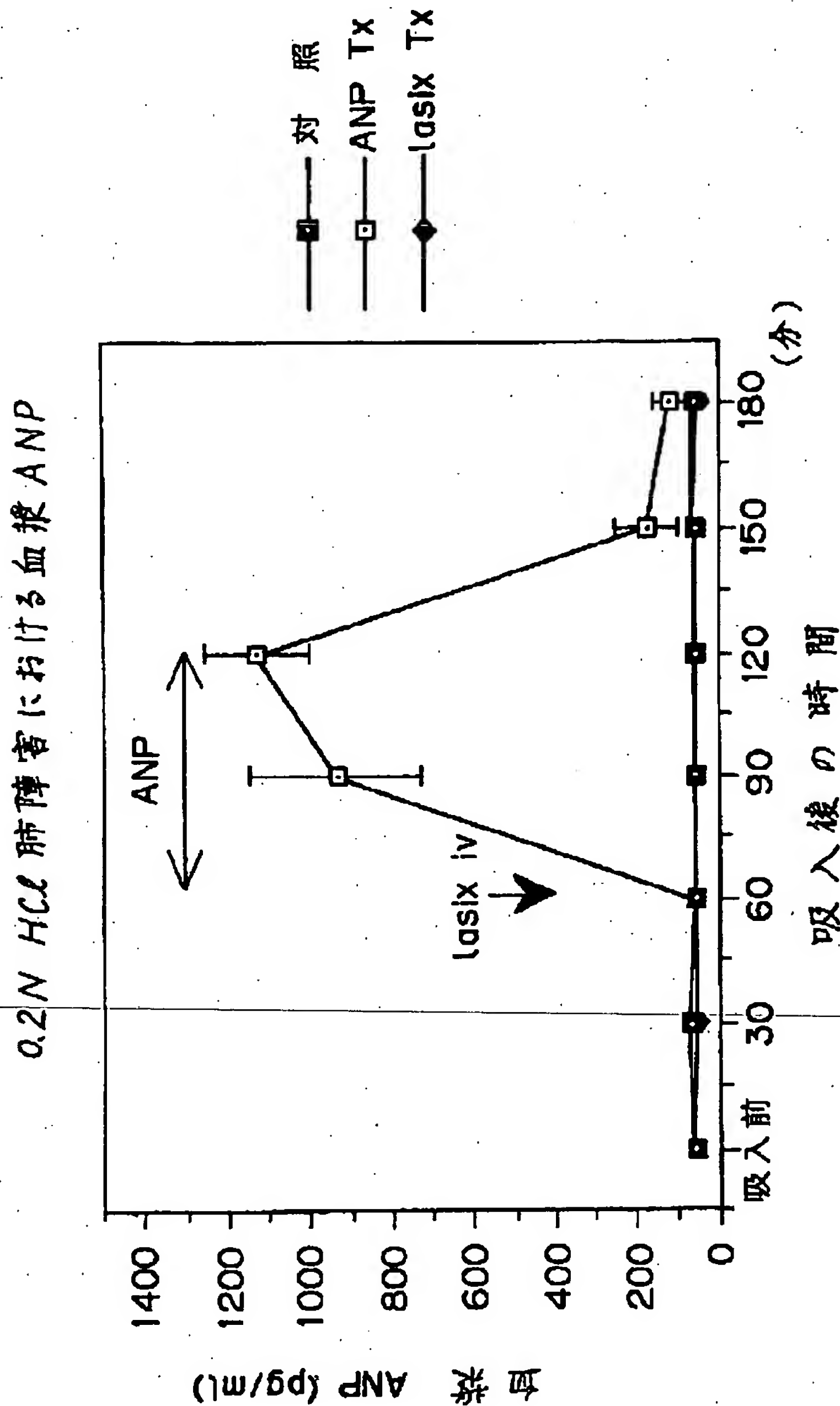
【図2】は図1の場合と同様な条件における、実験動物の利尿量を示すグラフである。

【図3】は図1の場合と同様な条件における、実験動物の動脈血酸素分圧を示すグラフである。

【図4】は図1の場合と同様な条件における、実験動物の肺動脈圧を示すグラフである。

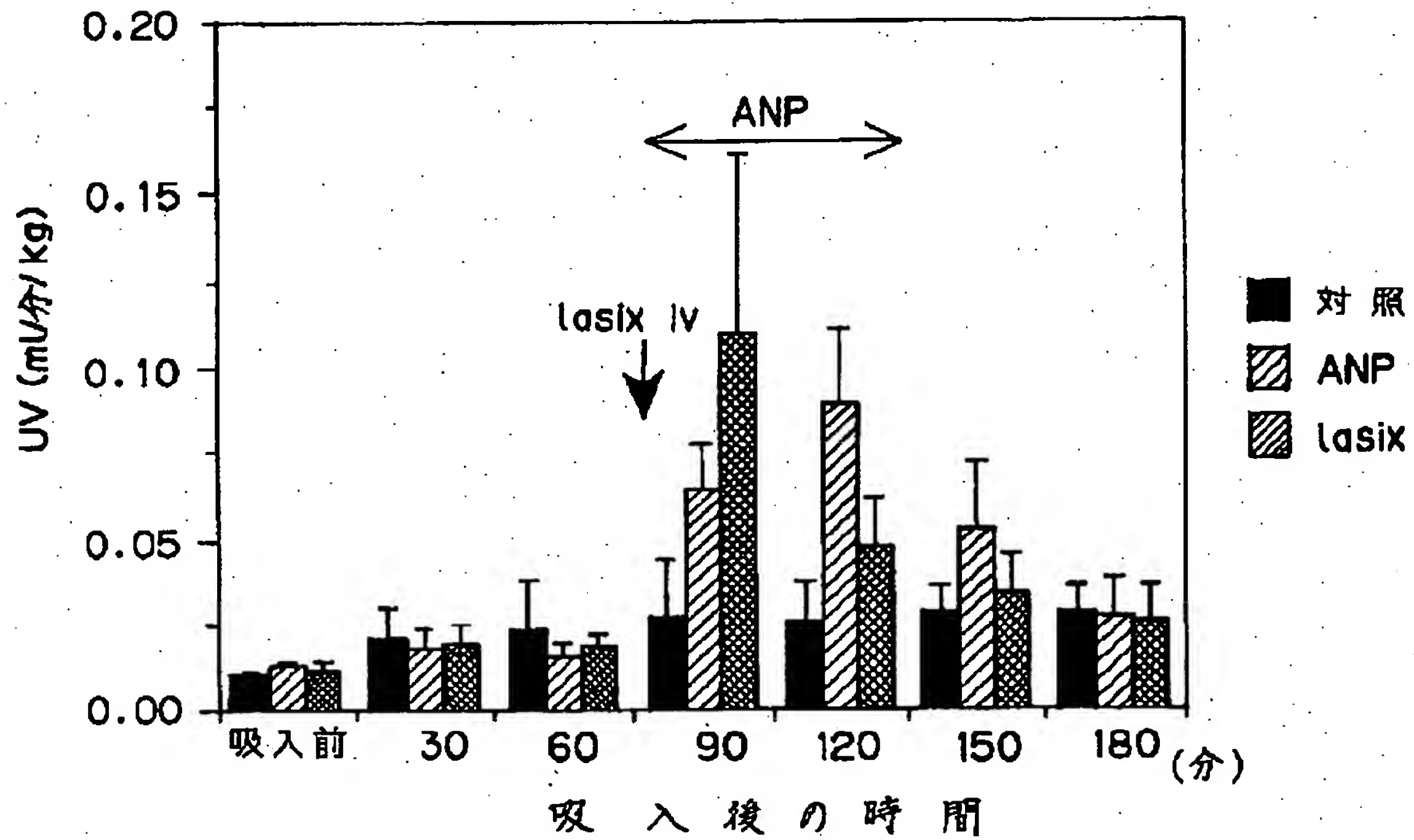
【図5】は図1の場合と同様な条件における、実験動物の血圧を示すグラフである。

【図1】



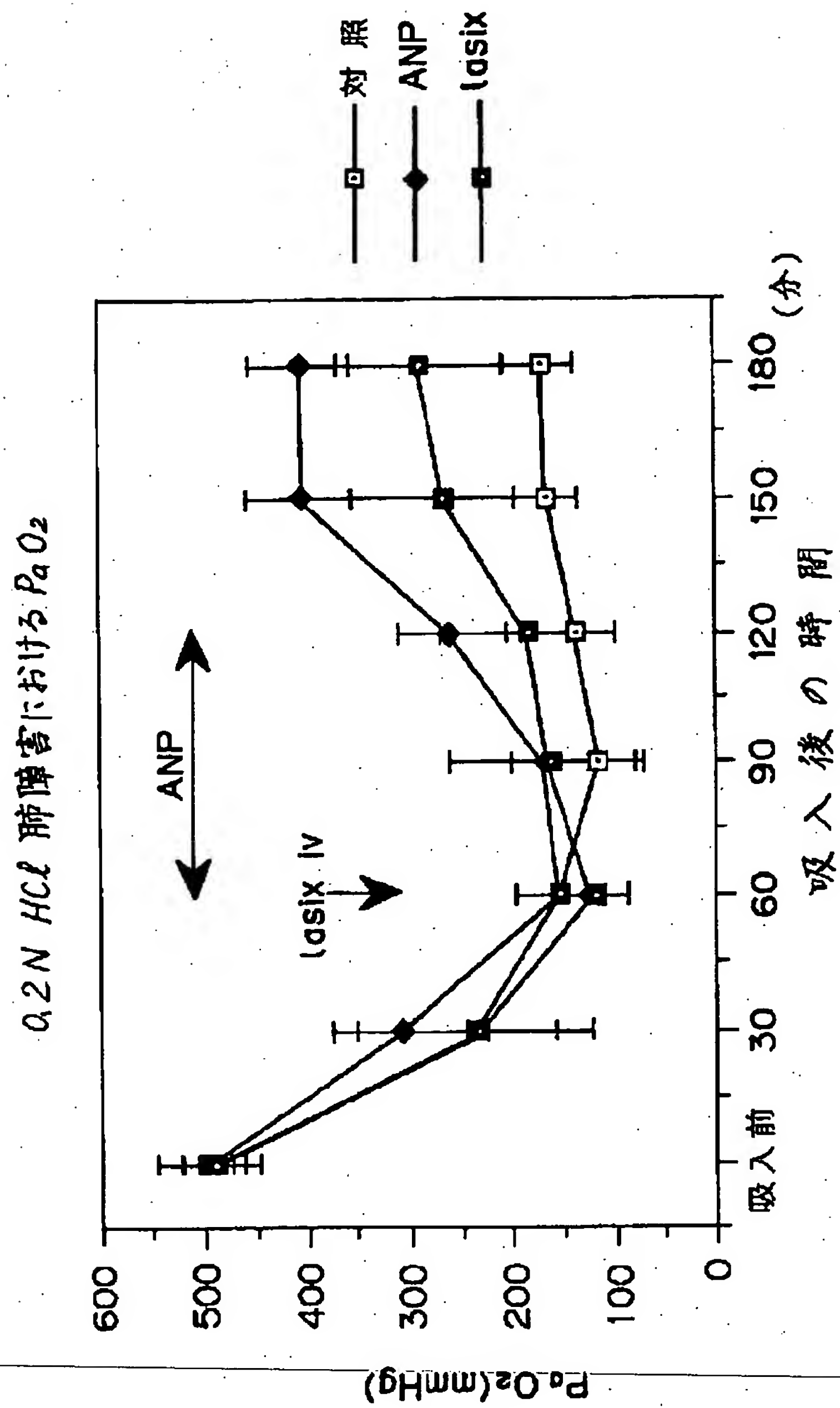
【図2】

0.2N HCl肺障害における利尿量



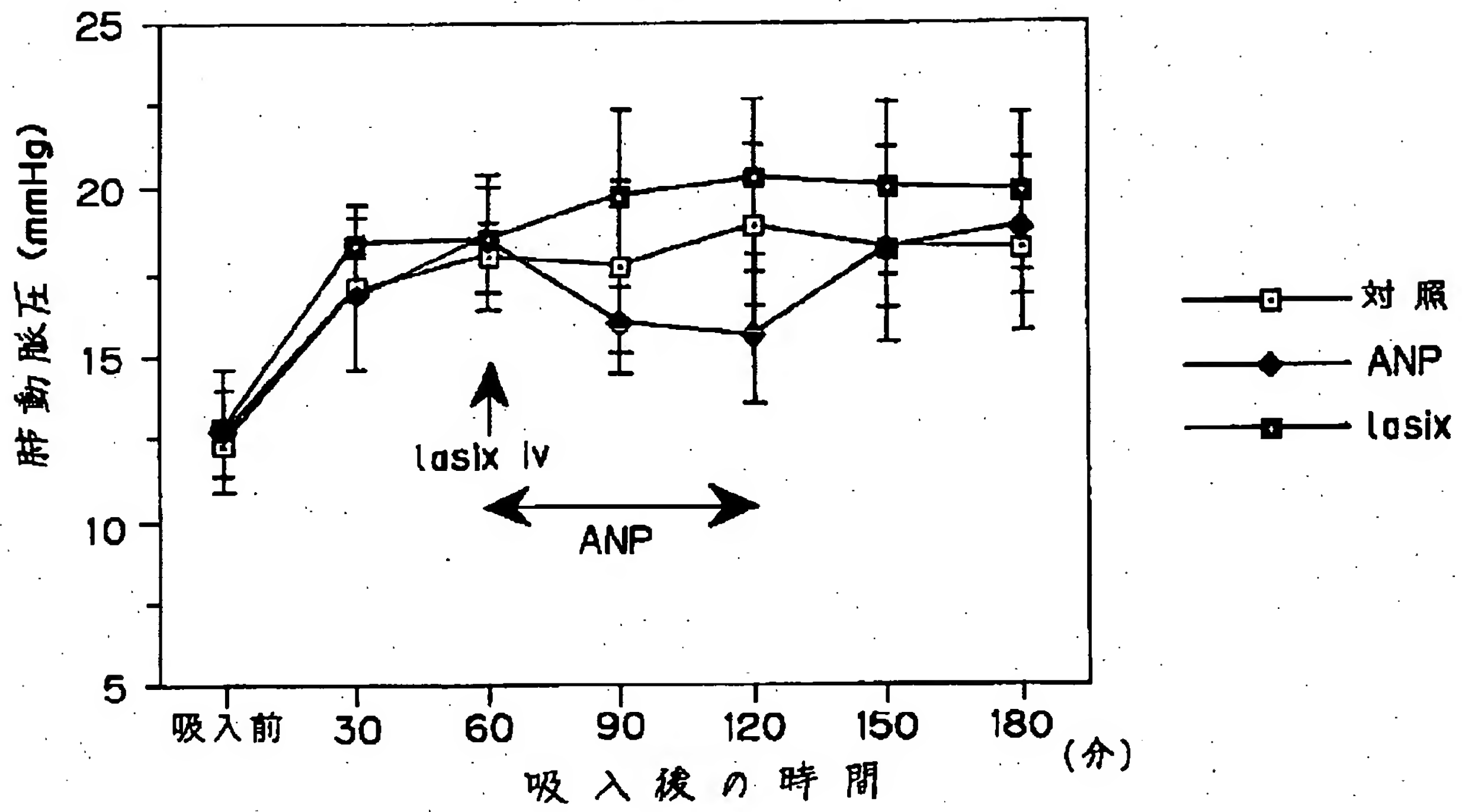
(7)

【図3】



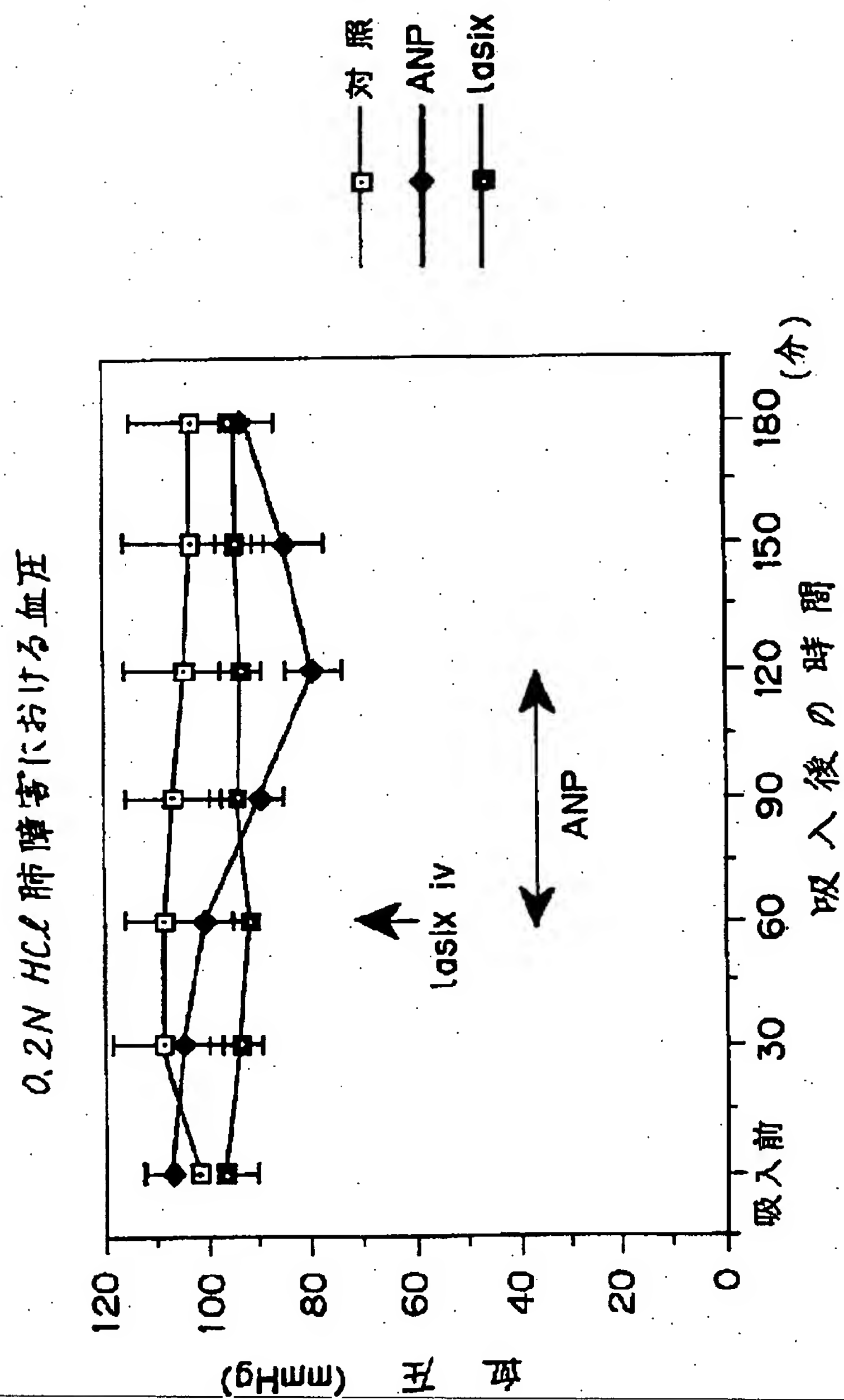
【図4】

0.2N HCl 肺障害における肺動脈圧



(9)

【図5】



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☒ **FADED TEXT OR DRAWING**

☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.